Aus der
Universitäts-Kinder-Poliklinik München
Vorstand: Geheimrat Professor Dr. SEITZ.

Das Blutbild bei experimentell erzeugter Rattenrachitis und seine Beeinflussung durch Höhensonne und bestrahltes Oel

INAUGURAL-DISSERTATION

zur Erlangung der Doktorwürde
in der gesamten Medizin
verfaßt und
einer hohen medizinischen Fakultät der
Bayer. Ludwig-Maximilians-Universität München
vorgelegt von
WILHELM HOFMANN
aus München

München 1926

Aus der
Universitäts-Kinder-Poliklinik München
Vorstand: Geheimrat Professor Dr. SEITZ.

Das Blutbild bei experimentell erzeugter Rattenrachitis und seine Beeinflussung durch Höhensonne und bestrahltes Oel

INAUGURAL-DISSERTATION

zur Erlangung der Doktorwürde
in der gesamten Medizin
verfaßt und
einer hohen medizinischen Fakultät der
Bayer. Ludwig-Maximilians-Universität München
vorgelegt von

WILHELM HOFMANN
aus München

München 1926

Gedruckt mit Genehmigung der
medizinischen Fakultät der Universität München
Referent: Prof. Dr. Karl Seitz

Die kindliche Rachitis hat schon eine große Anzahl von Forschern beschäftigt und um ihr mit größerem Erfolge entgegentreten zu können, waren viele tierexperimentelle Versuche nötig. Mit Vorliebe benutzte man dazu weiße Ratten und auch an unserem Institute wurde mit diesen Tieren eine Reihe von Experimenten angestellt und im speziellen untersucht, inwieweit diese künstlich erzeugte Rachitis das Blutbild der Ratten beeinflußt.

Chemische Blutuntersuchungen an rachitischen Kindern durch Howland und Kramer ergaben einen auffallend niederen Phosphor-, aber einen erhöhten Calciumspiegel. Dieses Mißverhältnis der beiden Minerale schien Mac Collum und seinen Mitarbeitern Shipley, Shimmonds und Park eine wichtige Ursache für die Entstehung der Rachitis zu sein. Es wurden eine große Anzahl Fütterungsversuche angestellt, wobei das Verhältnis von Ca. und Ph. sich immer änderte. Auf diese Weise fand man, daß Ratten, in deren Nahrung hundert Gewichtsteile Calcium und 60 Gewichtsteile Phosphor waren, gut gediehen, während Veränderungen dieses Verhältnisses nach irgend einer Richtung hin rachitisähnliche Skeletterkrankungen hervorriefen. So entstand eine zuverlässig rachitiserzeugende Kostart, welche aus 33 Proz. Mais, 33 Proz. Weizen, 15 Proz. Maiskleber, 15 Proz. Gelatine, 3 Proz. Calciumcarbonat und 1 Proz. Kochsalz besteht. Sie ist in der Literatur als Mac Collum'sche Kostart 3143 bekannt. Als Getränk diente destilliertes Wasser.

Das Verhältnis von Ca. und Ph. in der Mac Collum'schen Nahrung beträgt 100 : 25, also beträgt der Kalkgehalt das Doppelte, der Phosphorgehalt nur ¾ des Bedarfs. Auf Feststellungen des Vitaminforschers Funk in Warschau fußend, gibt nun Mc. Collum in neuerer Zeit an, daß die Wirksamkeit seiner empirisch gefundenen rachitiserzeugenden Nahrung auch von

dem Fehlen eines antirachitischen Vitamins abhängt.

Man unterscheidet heute u. a. ein wachstumförderndes Vitamin A und ein antirachitisches Vitamin E. In der obengenannten Mc. Collum'schen Rachitisdiät Nr. 3143 ist das Vitamin A in hinreichender Menge vorhanden, während das Vitamin E gänzlich fehlt.

An Hand zahlreicher Beobachtungen an unserem Institute konnte festgestellt werden, daß die Versuchstiere bei der genannten Diätform meistens in der vierten Diätwoche krankhafte Veränderungen aufwiesen. Die Tiere wurden matter, verloren ihre gewohnte Regsamkeit und bekamen einen trottenden Gang, indem sie ihre Beine breitspurig aufsetzten. Das Fell wurde struppig und an Nase und Ohren traten räudeartige Ausschlagskrankheiten auf, welche bei den Normaltieren nicht in so ausgeprägtem Maße vorkamen.

Durch Röntgenbilder konnte festgestellt werden, daß die Knochen bei den Rachitistieren im Verkalkungsprozesse zurückblieben, die Extremitätenknochen verkrümmten sich, der Thorax war schmal und an den Epiphysen konnte man die charakteristische Auftreibung beobachten. Auch histologisch zeigte sich eine mangelhafte Ossifikationsgrenze und dafür eine größere Knorpelzone, ähnlich, wie es sich an den Epiphysen von Knochen rachitischer Kinder fand.

Sehr auffallend waren auch die Gewichtsunterschiede. So nahmen Normaltiere, die mit gemischter Kost aus Küchenabfällen gefüttert wurden, gleichmäßig zu, während die auf Rachitisdiät gesetzten Ratten im Gewichtsanstiege wesentlich zurück blieben, ja sogar häufig in der 5.—7. Diätwoche etwas abnahmen, um dann langsam wieder an Gewicht zuzunehmen. Bemerkenswert dürfte sein, daß gerade in der Zeit des kritischen Gewichtsabfalles, bei den auf Mc. Collum'sche Kost gesetzten Rachitistieren pathologische Veränderungen im Blutbilde auftraten. An unserem Institute wurden seit mehr als einem Jahre eine große Anzahl Blutbilder von Ratten untersucht, die die durch die vorerwähnte Diät rachitisch gemacht

waren. Alle Untersucher ohne Ausnahme konnten dabei Blutbildveränderungen wahrnehmen, die im Auftreten von Jugendformen von weißen und roten Blutkörperchen bestanden.

Bald nachdem Mc. Collum der Oeffentlichkeit mitteilte, daß es ihm gelungen sei, experimentell an Ratten Rachitis zu erzeugen, teilte der Amerikaner Heß an der Columbia Universität New York mit, daß er imstande war, durch Bestrahlungen mit Quarz- und Kohlenbogenlampen den Krankheitsausbruch zu beeinflussen. Schon eine Bestrahlungsdauer von 1½ Minuten genügte, um einen Erfolg zu erzielen. Ebenso erreicht man durch direkte Sonnenbestrahlung von 15 Minuten dasselbe wie durch künstliche Höhensonne, was ebenfalls durch Heß im Experimente nachgewiesen wurde. Das Gewicht der mit Höhensonne bestrahlten Versuchstiere nimmt immer eine Mittelstellung zwischen den rein rachitischen und normal ernährten Tieren ein. Der charakteristische Gewichtsabfall in der 5.—7. Versuchswoche bei den Rachitistieren war bei den Höhensonne-Tieren weniger stark ausgesprochen, was im Sinne eines milderen Verlaufes der Erkrankung bei den bestrahlten Ratten spricht. Aehnliche Feststellungen konnten auch am Lister-Institut in London und der Universitäts-Kinderklinik in Wien gemacht werden. Goldblatt und seine Mitarbeiter am erstgenannten Institute kamen zu dem Ergebnis, daß Lichtstrahlen den Mangel an antirachitischem Faktor weitgehend ausgleichen, aber kein Ersatz für dieses Vitamin darstellen. Sie vermuten, daß die Wirkung des Lichts darauf beruht, daß es die Wirksamkeit des Vitamins irgendwie fördert. Heß fand auch, daß Rachitis experimentell durch Sonne und Quarzlicht bei rachitiserzeugender Kost verhütet werden konnte. Das Wachstum konnte bei geringer phosphorhaltiger Kost gefördert werden, während bei p-freier Kost auch Licht kein Wachstum hervorrufen konnte. Bestrahlte weiße Ratten blieben bei Rachitiskost frei, schwarze Ratten wurden rachitisch. Damit erklärt sich Hess das starke Auftreten der Rachitis bei Negern und Südländern in Amerika. In Schulzer's

Versuchen an nach Mc. Collum artifiziell rachitischen Ratten gelang es durch tägliche Bestrahlungsdauer von 15 Minuten in 63 cm Abstand, den Phosphorspiegel im Blutserum von durchschnittlich 2,28 mgr Proz. auf Normalwerte innerhalb vier Wochen zu bringen. Nach ihm genügte sogar schon eine tägliche Bestrahlungsdauer von 1—2 Minuten. Schwarze und dunkelbraune Tiere sind deutlich schlechter durch kürzere Bestrahlungsdauer geschützt.

Nach Rost hängt die biologische Wirksamkeit einer künstlichen Lichtquelle nicht nur von qualitativen, sondern auch vom quantitativen Gehalt an Violettstrahlen ab, der bei der künstlichen Höhensonne am höchsten ist. Die Strahlen werden im wesentlichen von der Haut absorbiert und ihre Hauptwirkung beruht auf der Abspaltung von Kohledioxyd und Wasser aus organischen Stoffen, die sich wieder zu neuen Substanzen zusammenlagern und so heilend wirken.

Zu außerordentlich beachtenswerten Ergebnissen gelangte man in den letzten paar Jahren, als man daran ging, das Futter selbst zu bestrahlen. Man stellte fest, daß bestrahlte Luft keinen antirachitogenen Einfluß ausübe, einer Bestrahlung ausgesetztes Wasser nur im minimalen Grade, welches praktisch gleich Null ist. Einen gewaltigen Schritt vorwärts führte auf diesem Gebiet Hess, der pflanzliche Oele in ganz dünner Schicht bestrahlte. So nahm Baumwollsamenöl und Leinsamenöl bei einstündiger Bestrahlung in 30 cm Abstand antirachitische Eigenschaften an, was bei Mineralölen nicht möglich war. Die also so in dünnster Schicht der Bestrahlung ausgesetzten Oele werden gebleicht und bekommen einen lebertran-ähnlichen Geruch, daher das Wort: Jecorisierung. Was die Technik der Bestrahlung des Oeles anbelangt, so wurde dieses auf Petrischalen in ganz dünner Schicht ausgebreitet; die Schalen müssen dabei ständig bewegt werden, damit das Oel nicht eintrocknet. Die Fütterung mit dem bestrahlten Oele erfolgte bei Heß durch Glaspipette. Später fand man, daß auch Weizenkörner nach Höhensonnebestrahlung antirachitogene Eigenschaften annahmen, ja sogar selbst Organteile bestrahlter Ratten

durch Verfütterung eine Heilung der Rachitis herbeiführten. Steenbock und Nelson bestätigten die früher mitgeteilte Beobachtung, daß eine an sich rachitogene Kost durch Bestrahlung mit Ultraviolettlicht eine antirachitische Wirkung erhält. Es wurde auch die Mc. Collum'sche Kost dabei verfüttert und während die mit unbestrahltem Futter genährten Tiere eine schwere Rachitis bekamen, konnte man bei den mit bestrahlter Kost ernährten Ratten einen viel milderen Verlauf der Erkrankung beobachten, was auch durch histologische Schnitte gezeigt werden konnte. Diese Strahlenaktivierung des Futters, die also wachstumfördernd und verkalkend wirkt, gelingt in offener Schale ebenso wie in verkorkten Quarzflaschen, nicht aber in braunen Glasflaschen. Die Aktivierung wird weder durch Erhitzen im Vacuum auf 95 Grad für 45 Minuten, noch durch 24-stündiges Stehen bei Zimmertemperatur gestört.

An unserem Institute wird seit mehr als Jahresfrist an einem großen Komplex gearbeitet, dessen Arbeiten Herr Dr. Maurer leitet und sich in der Hauptsache mit dem Rachitisproblem befaßt. Einen Baustein dazu bilden die Versuche, die Blutbildveränderungen an rachitischen Ratten festzustellen und ebenfalls zu beobachten ob dieses Blutbild bei Höhensonnebestrahlung und nach Fütterung der Tiere mit bestrahltem Oel eine Aenderung im Sinn einer Heilung erfährt.

Zu diesem Zwecke standen mir 24 weiße Ratten in fünf Familien zur Verfügung. Aus jeder Familie wurde eine Ratte mit Normalkost aus Küchenabfällen gefüttert und galt dann als Normal- und zugleich als Kontrolltier. Die anderen Geschwistertiere bekamen die rachitiserzeugende Kostart 3143 nach Mc. Collum und galten als Rachitistiere. Von einem Teil dieser letzteren wiederum wurden die einen mit Höhensonne bestrahlt, die anderen mit bestrahltem Sesamöl gefüttert. Die Höhensonnentiere wurden täglich 5—30 Minuten in steigender Dauer im Abstand von 70 cm mit der Quarzlampe Hanau bestrahlt.

Die Normaltiere gediehen vorzüglich. Sie waren immer lebhaft, das Fell war glänzend, weiß und ge-

schmeidig und die Freßlust war immer vorhanden. Die Zahl der roten Blutkörperchen betrug bei ihnen durchschnittlich 5,2 Millionen pro mm^3, die Zahl der weißen etwa 10000 pro mm^3. Das Ergebnis der Blutabstriche ergab ein durchschnittliches Zahlenverhältnis von 74 Proz. Lymphozyten, 24 Proz. neutrophilen Leukozyten, 0,6 Proz. cosinoph. Leukozyten, 0,5 Proz. Mononukleären und 1 Proz. Uebergangszellen. Myelozyten waren in keinem Falle zu finden. Normoblasten waren nur bei zwei Normaltieren (69 und 96) beim ersten Abstrich in erhöhter Zahl zu finden, sonst handelte es sich immer um Bruchteile eines Prozents der Weißen, (zirka 0,1 Proz. durchschnittlich).

Die Rachitistiere zeigten nun, soweit sie nicht mit Höhensonne oder bestrahltem Oel behandelt wurden, einen auffallenden Unterschied im Gegensatz zu den Normaltieren. Ueber die Art dieser Veränderungen nach aussen hin, wurde schon oben eingangs der Arbeit berichtet. Die roten Blutkörperchen betrugen durchschnittlich 7,5 Millionen pro mm^3, die weißen Blutkörperchen etwa 15000 pro mm^3. Was die prozentuale Zusammensetzung der letzteren anbelangt, so war im Vergleich zu den Normaltieren inbezug auf Lymphozyten und neutrophile Leukozyten kein nennenswerter Unterschied zu beobachten. Die eosinophilen Leukozyten waren etwas vermehrt und erreichten bei einem Tier sogar einmal 7 Proz. Die Mononukleären und Uebergangszellen waren kaum merklich vermehrt, dagegen traten von der 5. Versuchswoche ab Jugendformen der Weißen und Roten auf. So konnte in der 7. bezw. 8. Versuchswoche die Höchstzahl von durchschnittlich 43 Myelozyten und 57 Normoblasten auf 1000 weiße Blutzellen gefunden werden. Von diesem Zeitpunkt ab nahmen diese Jugendformen wieder konstant ab.

Die mit Höhensonne bestrahlten Tiere, welche auch die rachitiserzeugende Kost erhielten, enthielten im Blutbilde Myelozyten und Normoblasten, jedoch in geringerem Masse, als die unbehandelten Rachitistiere. So waren zwischen der 6. — 8. Versuchswoche im Durchschnitt **20‰** Myelozyten und nur etwa 8‰

Normoblasten feststellbar. Außerdem fiel ähnlich, wie bei den Rachitistieren, eine gewisse Eosinophilie bei den Leukozyten auf.

Den günstigsten Einfluß schien die Fütterung der Rachitistiere mit bestrahltem Sesamöl auf das Blutbild auszuüben. Abgesehen von einer schwachen Leukozytose waren in keinem Falle Normoblasten zu finden. Auch die Zahl der Myelozyten blieb hinter der der mit Höhensonne bestrahlten Tiere zurück. Diese Versuchstiere waren inbezug auf ihr Gesamtbefinden von den Normaltieren nicht wegzukennen. Wenn bei einem dieser Tiere (Nr. 90) die Myelozyten nahezu ein halbes Prozent betrugen, so mag das wohl darauf zurückzuführen sein, daß die Mutter dieses Tieres auch schon mit Rachitiskost genährt war, die Tiere also von Anfang an in ihrer Gesundheit wesentlich beeinträchtigt waren.

Es dürfte also nach diesen Ergebnissen kaum noch zweifelhaft erscheinen, daß das Auftreten von Jugendformen der roten und weißen Blutkörperchen im engsten Zusammenhang mit der Rachitis steht. Das Fehlen dieser Jugendformen im Blutbilde normaler und mit bestrahltem Oel geheilter Tiere dürfte ebenfalls als Beweis dafür anzusehen sein.

Fasse ich nochmals zusammen, so komme ich zu folgendem Ergebnis: Bei den nach Mc. Collum experimentell rachitisch gemachten Ratten treten im Blutbild in der 5. Woche Normoblasten auf, die sich bis zur 7. Woche vermehren und dann wieder vermindern. In ähnlichem Sinne treten in der 5.—6. Woche Myelozyten auf, die ebenfalls nach einer vorübergehenden Steigerung gegen die 7.—8. Woche zahlenmäßig abnehmen. Desgleichen ist eine Zunahme der eosinophilen Leukozyten zu beobachten. Höhensonne-Bestrahlung bei rachitischen Tieren bewirkt eine Abnahme der Jugendformen im Blute: um mehr als die Hälfte bei den Myelozyten und bis zu $^1/_8$ bei den Normoblasten, (im Vergleich zu unbestrahlten Rachitistieren). Ein noch besserer Erfolg wird durch Verfütterung von bestrahltem Oel inbezug auf das Blut rachitischer Ratten erzielt. Die Zahl der Myelozyten

sinkt weiterhin unter die der bestrahlten Tiere, Normoblasten fehlen gänzlich. Es ist somit eine deutliche Heilwirkung der Höhensonnenbestrahlung und des bestrahlten Oels bei Rattenrachitis auf das unter der Versuchskrankheit gestörte haematopoetische System festzustellen.

Es sei mir gestattet, Herrn Geheimrat Prof. Dr. Seitz für die Ueberlassung des Themas und die liebenswürdige Uebernahme des Referates, sowie Herrn Assistenzarzt Dr. Maurer für die eifrige Mithilfe und für die Durchsicht und Anleitung der Arbeit ergebenst zu danken.

Literatur:

Hess Alfred F.: Newer aspects of the ricket problem. Journ. of the Americ. med. assoc. Bd. 78 No. 16. S. 1177 bis 1183. 1902. Lester J. Unger u. Alwin M.

Pappenheimer: Experimental rickets in rats. VII. The prevention of rickets by sunlight, by the ray of the mere coury vapor, and by the carbon arc lamp. Jour. of exp. med. Bd. 36 No. 4 S. 427—446. 1922.

Hess Alfred und Margaret B. Gutmann: The cure of infantile rickets by sunlight accompanied by an increase in the in organic of the blood. Journ. of the Americ. med. assoc. Bd. 78. No. 1. S. 29 bis 31. 1922.

Hess Alfr. F. and Mildred Weinstock: Antirach., properties to letter, and to growing wheat by ultrav. irridation. Proc. of the soc. f. exp. biolog. and med. Bd. 22 Nr. 1 S. 5—6. 1924.

Dieselben: Antir. propert. imparted. interfluids by ultraviolet irridation. Journ. of the americ. med. assoc. Bd. 83 Nr. 23. S. 1845—1846. 1924.

Dieselben: Antirach. propert. impatted to interfluids and to green vegetabl. by ultra-violet irridation. Journ. of biol. chem. Bd. 62. Nr. 2. S. 301—313. 1924.

Hess Alfr. F.: The antirach. activation of foods and of cholesteral by ultraviol. irridation, wie vorher: Bd. 84 Nr. 25. S. 1910—1913. 1925.

Steenbock Harry and L. Daniels: Irratiated foods and Organic compounds therapeutic, possibilities. Journ. of the americ. med. assoc. Bd. 84 No. 15. S. 1093 bis 1097. 1925.

Steenbock H. and H. Black: Fat solbl. Vitamins XVII: The induction of growth promoting and calcifying properties in a ration by exposure to ultraviol. Ligth. Journ. of biol. chem. Bd. 61. Nr. 2. S. 405—422. 1924.

Steenbock H. and M. F. Nelson: Fat soluble Vitamins XIX: The induction of calcifying properties in a rickets — producing ration by radiant energy. Wie vorher Bd. 62 Nr. 1 S. 209—216. 1924.

Steenbock H., Mariana F. Nelson and Archic. Black: Determinations of Vitamin A. wie vorher St. Louis 27.—29. XII. 1923 Bd. 59 No. I. 1924.

Shipley P. G., Ethel May Kinney and Mc. Collum: Studies in experimental rickets XXV. A. study of the antirac. effect of certain oils. Journ. of biol. chem. Bd. 50. Nr 1 S. 177—182. 1924.

Hopkins, F. Gowland: Cameron price lectures on the present position of the Vitamin problem. Lect. II. Rikkets as a deficiency disease. Brit. med Journ. No. 3278 S. 748—750. 1923.

Rost G. A.: Die biologischen Grundlagen der Ultraviolett-Therapie (Strahlentherapie) Bd. 16 H. 1 S. 1—23. 1923.

Schulzer, Poul and Carl Sonne: The prophylactic action of light in experimental rickets. Acta med. skandinav. Suppl. Bd. 7. S. 91—101. 1924.

Goldblatt, Harry and Katharine Majoric Soames: The supplementary value of ligth rays to a diet graded in its content of fat soluble organic factor. Biochem. Journal Bd. 17 Nr. 4—5. S. 622—629. 1923.

Hume, E. Margaret: The affect of radiation with the mercury — vapour quartz lamp on the growth of rats fed on a diet deficient in Vitamin A. Lancet Bd. 203. Nr. 24. S. 1318—1321. 1922.

Funk, Casimir: Die Vitamine.

Lebenslauf.

Ich, Wilhelm Hofmann, Sohn des Kaufmanns Adam Hofmann, bin am 11. Juni 1900 in München geboren. Nach der Volksschule besuchte ich zuerst 4 Jahre das Humanistische Gymnasium und die übrigen Jahre das Realgymnasium zu München. Während meines Studiums am Realgymnasium wurde ich im Frühjahr 1918 zum Heere eingezogen, konnte aber bereits ab Februar 1919 wieder meine Studien aufnehmen. Im April 1921 machte ich die Reifeprüfung, anschliessend studierte ich zwei Semester Zahnheilkunde, ging aber dann zum Studium der Medizin über. Anfang des Sommersemesters 1924 bestand ich die ärztliche Vorprüfung und im Juli 1926 die ärztliche Prüfung. Mit Ausnahme des 9. Semesters, in welchem ich in Wien studierte, verbrachte ich die übrige Zeit an der Universität München.